Cup Loading Strip Holder
取扱説明書



GE imagination at work

1. IPGphor Cup Loading Holder 使用方法

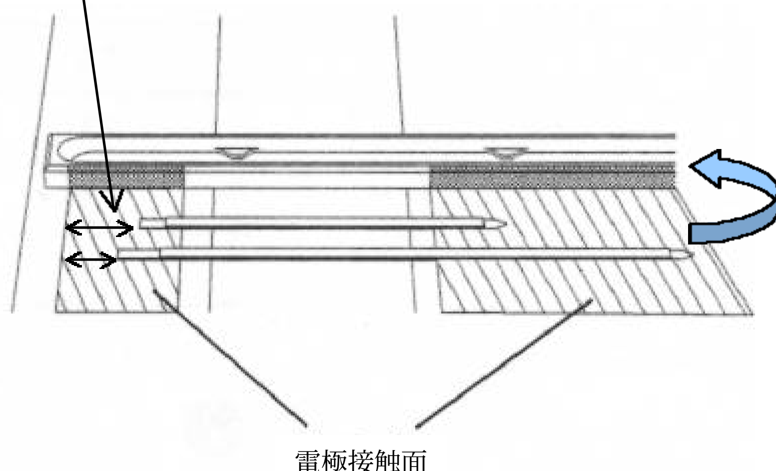
① Immobiline DryStripゲル(IPGゲル)は決められた量の膨潤液にて、Immobiline DryStrip Reswelling Trayを使用して膨潤します。標準のIPGphor Strip Holderを用いて膨潤することもできます。Cup Loading Strip Holder での膨潤はお勧めしません（推奨の膨潤液量を添加するには幅が広すぎます）。

IPG ゲルの長さ(cm)	膨潤液量(µl)
7	125
11	200
13	250
18	350
24	450

② IPGゲルを一晩(12時間〜)膨潤します。

③ Cup Loading Strip HolderをIPGphorのプラットフォームに置きます。Cup Loading Strip Holderの酸性側（先の尖っている方）をプラットフォームの陽極側（電極板の広い方）、塩基性側をプラットフォームの陰極側（電極板の狭い方）に接するように置きます。

④ 膨潤が終了したIPGゲルをストリップホルダーにゲル面を上にして置きます。この時、尖っている方を陽極側にします。7cmや11cmは陰極側が容器内の陰極側から1.5cmあるいは1.0cm離れている必要があります。



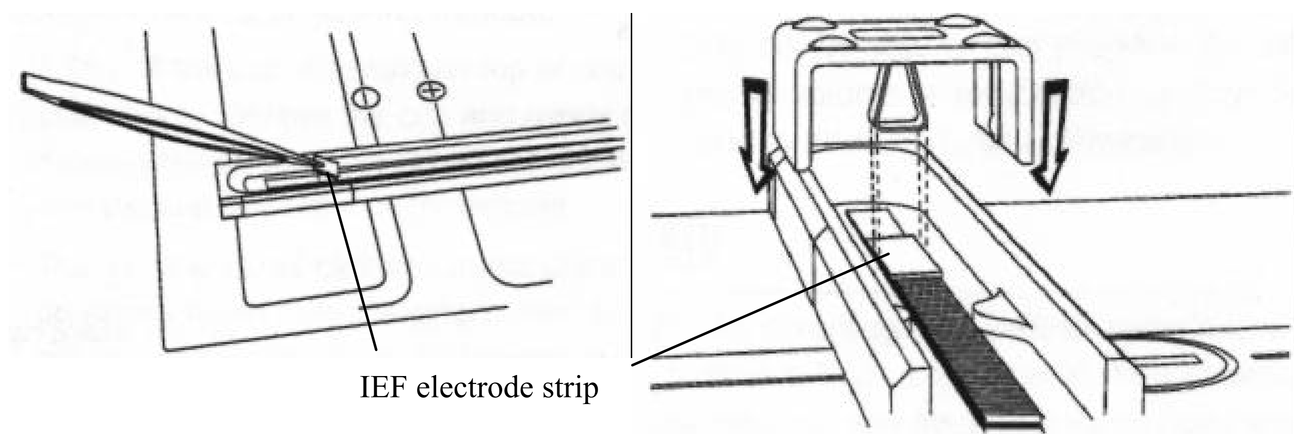
IPGゲルの陽極および陰極の位置はそのままで、Cup Loading Holder内に置きます。

⑤ IPGゲル上に電極をセットします。このとき、ゲルと電極の接触を確認します。

⑥ オプション :電極パッドの使用

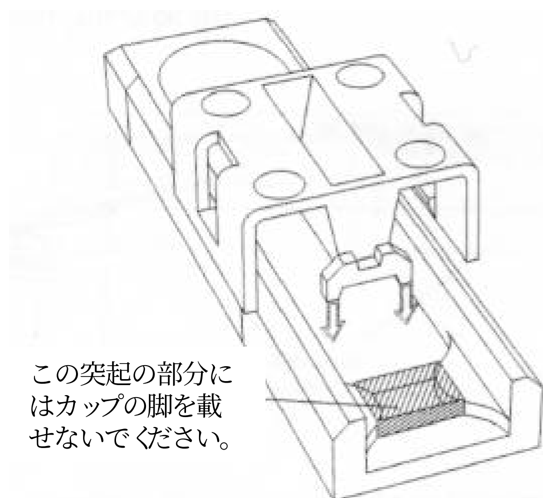
長時間の電気泳動による条件下では、水はIPGゲルの一端に向かって移動する傾向があり、もう一端に乾燥してきます。この現象は泳動直前に、IPGゲルとCup Loading Strip Holderの電極の間に、紙製電極パッドを置くことで最小限に抑えることができます。電極パッドはまた、IPGゲルの先端に蓄積して分離を妨害する可能性のあるイオンを吸着します。

IEF electrode strip(18-1004-40)から電極パッドとして5mm幅に切り取ります。1本のIPGゲルにつき2枚の電極パッドが必要です。電極パッドは脱イオン水にて浸し、ペーパータオル等で余分な水分を吸い取ります。電極パッドをIPGゲル上に置きます。電極パッド上に電極を載せます。カバーをし、IPGphor本体の蓋を閉めると完全に電極が電極パッドに接触します。
＊必要であれば電極パッドを長くします。長い電極パッドを使用する場合には電極パッドの端をIPGゲルの端重ねます。

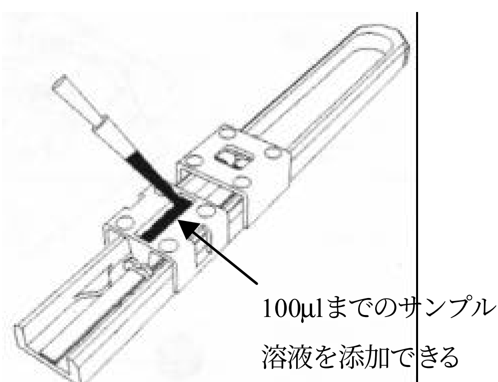


⑦　サンプルカップをIPGゲルの上にセットします。突起(protrusion)のある位置には設置できません。カップはストリップホルダーの底に完全に接触するまで押します。サンプルカップの脚はストリップホルダーの底の部分につきます。カップにサンプルを添加する前にカップと電極が正しくセットされているかを確認します。

IPGゲルの酸性および塩基性側からのサンプル添加は通常、最適な結果をもたらします。サンプルによっては添加位置を変えてみると泳動状態が改善される場合があります。一般的には塩基性側のIPGゲルでは酸性側のサンプル添加により最適な結果が得られています。



⑧　サンプルカップとIPGゲルが密着していることを確認するため、少量の膨潤液（サンプルを含まない）を添加します。流出していないことが確認できたら、サンプル添加の前に膨潤液を除きます。



サンプル溶液がもれる場合の対処法

▼カップの脚がサンプルカップ内の突起部分に載っている。
→カップをはずし、IPGゲルの上部に残っている液をゲルを傷つけないように取り除きます。カップを置き直し、流出していないことを確認します。

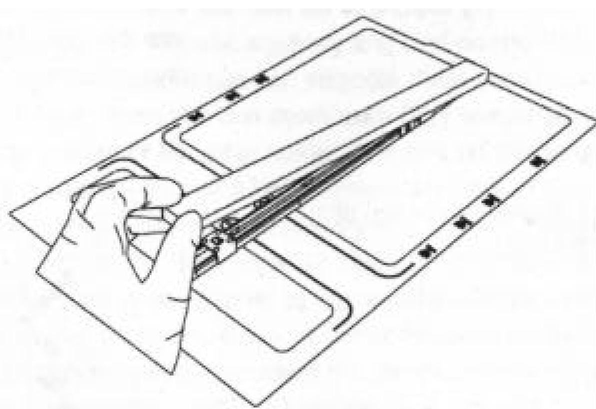
▼IPGゲルが容器の中央に置かれていない。
→ストリップホルダーから残っている液をIPGゲルを傷つけないように気を付けながら、ピペッターで取り除きます。カップをはずし、IPGゲルを中央に置き、カップを置き直します。再び流出がないか確認します。

▼IPGゲルが十分に膨潤されていない。
→IPGゲルの長さにあった量で決められた時間、膨潤してください。

⑨　サンプル添加の前にサンプルを遠心分離し、不溶性物質を除きます。微粒子や不溶性物質は泳動を妨害し、二次元電気泳動ゲルに縦横のストリーキングを引き起こします。サンプルカップに100µl以下のサンプル溶液を添加し、Cup Loading HolderにPlusOne DryStripカバー液(17-1335-01)を3-5ml添加しIPGゲルを覆います。**サンプルカップのサンプル溶液にもDryStripカバー液を重層します。**

⑩　ストリップホルダーの上にカバーをします。

⑪　IPGphor本体のカバーを閉めます。



⑫　IPGphorの泳動プログラムを設定します。IPGゲルにサンプルを添加している時は電圧を徐々に上げていきます。泳動条件はサンプルによっては至適化が必要になる場合があります。サンプルカップでのサンプル添加の後の泳動は、しばしば膨潤時サンプル添加より少ないボルトアワーで泳動が終了することがあります（特に塩基性ゲル)。

2. IPGphor Cup Loading Holder泳動条件

50µA per strip, 20℃

	Voltage	Voltage gradient type	Step duration In h:m	Step duration In vh
1	500	Gradient	0:01	
2	4000	Gradient	1:30*	
3	8000	Step-n-hold		下記参照

7cm	3-10L, 3-10NL, 4-7L	(1-2h) **	6500 Vh
7cm	6-11	(1-2h) **	8000 Vh
11cm	3-10L, 4-7L	(1-2h) **	12000 Vh
11cm	6-11	(2-4h) **	15000 Vh
13cm	3-10L, 3-10NL	(2-3h) **	17000 Vh
13cm	6-11, 4-7L	(3-5h) **	21000 Vh
18cm	3-10L, 3-10NL	(3-5h) **	25000 Vh
18cm	4-7L, 6-11	(3-5h) **	30000 Vh
18cm	6-9	(7-10h) **	55000 Vh
18cm	3.5-4.5, 4-5, 4.5-5.5, 5-6, 5.5-6.7	(7-10h) **	60000 Vh
24cm	3-10L, 3-10NL, 4-7L, 3-7L	(6-10h) **	52000 Vh
24cm	3.5-4.5, 4-5, 4.5-5.5, 5-6, 5.5-6.7, 6-9	(12-16h) **	96000 Vh

*ステップ2はサンプル添加量が多い場合、あるいは都合によってオーバーナイトの泳動を行いたい、等の場合は延長してください。

**泳動時間はタンパク質の濃縮に必要なボルトアワーが完了する時間を見積もってください。膨潤液中の塩濃度やIPGゲルの長さ、pH勾配により、泳動中の電圧値が最終電圧に到達しないこともあります。IPGゲルのより完全な泳動に重要なことは電圧が8000Vに到達するよりも必要なボルトアワーに達するまで泳動することです。最終ステップでIPGphorのプログラムを必要ボルトアワーに設定すると泳動を確実にできます。



GE imagination at work